

基于生物标志物和微流控技术的脓毒症早期诊断研究进展

郭雪艳, 邓兆凯, 桑岭

广州医科大学附属第一医院重症医学科, 广州呼吸健康研究院, 广东 广州 510120

【摘要】 脓毒症已成为全球公共健康领域的一个重大难题。由于其初始体征和症状具有非特异性, 且缺乏足够敏感或特异的诊断评分系统及生物标志物, 患者往往未能接受及时诊断和治疗, 死亡率极高。因此, 早期识别脓毒症并进行及时干预尤为重要, 新型的脓毒症相关分子和生物标志物值得进一步深入研究。本文综述脓毒症的主要诊断方法, 包括临床评估、生物标志物及新兴的诊断技术, 旨在为临床工作者提供全面的参考。

【关键词】 脓毒症; 早期诊断; 生物标志物; 组学; 微流控

【中图分类号】 R631

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2024)04-0033-06

Research progress in early diagnosis of sepsis based on biomarkers and microfluidic technology GUO Xue-yan, DENG Zhao-kai, SANG Ling Department of Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou Institute of Respiratory Health, Guangzhou 510120, China

【Corresponding author】 SANG Ling

【Abstract】 Sepsis has become a major problem in the global public health. Due to its initial signs and symptoms are non-specific and there is no sufficiently sensitive or specific diagnostic scoring systems and biomarkers, patients often fail to receive timely diagnosis and treatment. This leads to extremely high mortality. Therefore, early recognition of sepsis and timely intervention are particularly important. Novel sepsis-related molecules and biomarkers are also worthy of further research. This article will review the main diagnostic methods of sepsis in detail. These include clinical assessment, biomarkers and emerging diagnostic technologies. Our aim is to provide a comprehensive reference for clinical workers.

【Key words】 Sepsis; Early diagnosis; Biomarkers; Multi-omics; Microfluidics

脓毒症是指宿主对感染的反应失调而导致的危及生命的器官功能障碍, 尽管医疗技术和卫生条件不断改善, 脓毒症的发病率和死亡率依然居高不下。2017 年全球疾病负担报告指出, 全球每年发生 4890 万例脓毒症病例和 1100 万例脓毒症相关死亡病例, 占全球死亡人数的近 20%^[1]。在急诊科和重症监护病房 (ICU) 中, 脓毒症的早期诊断和治疗始终是临床医生面临的重大挑战, 脓症患者首次给药延迟会增加住院死亡风险, 并且每延迟一小时与死亡风险之间存在线性关系^[2]。

早期诊断、及时治疗是改善脓毒症预后、提高其生存率的关键, 也是目前研究的主要目标。近年来, 随着研究的不断深入, 脓毒症的诊断方法得到了显著发展。本文将从多个角度系统地介绍脓毒症的诊断方法, 涵盖传统方法和新兴技术, 以及面临的挑战和未来发展方向。

1 脓毒症的定义与目前临床诊断

脓毒症的诊断基于国际指南中公布的标准和流程。1992 年, 脓毒症首次通过共识定义为疑似感染的全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 在这一定义下, 脓毒症被分为脓毒症、严重脓毒症和脓毒性休克, 旨在突出脓毒症严重程度的不同阶段。基于感染前提下, 脓毒症诊断需至少满足 SIRS 标准中的两项, 具备较高的敏感性。但同时该标准易受到其他非感染性炎症反应 (如创伤、手术、烧伤等) 的影响, 特异性较差, 容易导致误诊^[3]。2001 年在该定义中加入临床和实验室检查指标作为补充, 如炎症标志 (如血浆 C-反应蛋白和降钙素原的增加), 血流动力学和组织灌注指标 (如高乳酸血症)^[4]。

2016 年提出第三次国际脓毒症定义共识为由宿主对感染的免疫反应失调引起的危及生命的器

【基金项目】 国家重点研发计划项目 (编号: 2022YFC2504402), 国家自然科学基金面上项目 (编号: 82270081), 广东省基础与应用基础研究基金 (编号: 2023A1515220166), 广州医科大学附属第一医院成果转化培育项目 (编号: ZH201805), 广州呼吸健康研究院自主项目 (编号: 2019GIRHQ05)

【通讯作者简介】 桑岭, 男, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 博士后合作导师, 加拿大多伦多总医院访问学者。国家卫健委抗击新冠肺炎专家救援队成员, 国家重症医学专业医疗质量控制中心第一届重症呼吸学质控工作组专家, 中国病理生理学会危重病医学分会第二届委员会青年委员, 中国医师协会体外生命支持分会第一届委员会青年委员。主要研究方向: 呼吸重症、机械通气、呼吸力学、重症感染等。

官功能障碍,使用快速序贯器官衰竭评估(quick sequential organ failure assessment,qSOFA)评分作为识别工具。新的定义中,严重脓毒症不再被列为一个类别,因为所有脓毒症就其本质而言都被认为是严重的^[5]。新定义有三个核心组成部分:器官功能障碍、宿主免疫反应失调和感染。

脓毒症新定义依赖于器官功能障碍的评估。1994年,欧洲重症监护学会引入序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment,SOFA)对器官功能衰竭进行量化,SOFA评分 ≥ 2 提示器官功能障碍,多用于脓毒症的预后预测,对早期识别脓毒症效果有限。且SOFA评分需要详细的临床数据和实验室结果支持,在资源匮乏的医疗环境中应用尤为受限^[6]。2016年欧洲重症医学会(ESICM)和美国重症医学会(SCCM)提出用于重症监护病房外患者的评估评分系统,即qSOFA评分,帮助院外和急诊患者快速诊断脓毒症。qSOFA评分包括呼吸频率 ≥ 22 次/分、精神状态变化和收缩压 ≤ 100 mmHg,评分越高,死亡风险越高^[7]。qSOFA评分仅评估三个简单的临床指标,缺乏特异性,这可能导致并非由脓毒症引起的器官功能障碍患者归入此类,造成过度诊断和治疗。不仅增加了医疗资源的负担,还可能促进耐药菌株的产生,对公共健康构成威胁。有研究表明qSOFA评分识别脓毒症的能力不如SIRS标准,敏感性较低,极易导致脓毒症的漏诊,且qSOFA评分预测28天死亡的价值较低,对长期预后评估有限,目前更适用于预测短期病死率^[8]。

微生物学检测是脓毒症诊断的手段之一,能够为脓毒症的确证和治疗提供明确依据。血培养是临床中最常用的检测指标,但其耗费时间长,标准细菌培养至少需要24~72小时才能生长,在血培养呈阳性后仍需要8~24小时进行药敏试验,并且需要大量血液提高分析的敏感性。存在细菌负荷低或已经接受抗生素治疗的脓症患者可能会出现假阴性结果,培养物受到污染可能导致假阳性结果等缺点^[9]。并且在微生物检测无法及时确诊脓毒症和引起感染的病原体时,拯救脓毒症运动指南指出临床医生需在首次怀疑脓毒症1h内给予抗生素治疗,这可能导致多重耐药的发生和治疗成本的增加。因此,微生物学检测不能有效识别由感染引起的器官功能障碍,不适用于脓毒症的早期诊断。

尽管新定义在脓毒症诊断、病情监测和预后评估中发挥一定作用,但在早期诊断方面仍显不足。脓毒症的诊断缺乏高敏感性和特异性强的单一生物标志物,未来的工作应聚焦于开发更灵敏、特异的早期识别工具,提供一个床旁可执行的快速准确

的方法用于脓毒症的早期诊断、预测治疗反应及评估预后,增加脓毒症患者的生存可能性。

2 传统生物标志物

虽然目前常规鉴定病原体技术耗时且不敏感,宿主免疫反应的检测较少,但脓毒症期间生理指标的检测比病原微生物的确证更直接、敏感且迅速。生物标志物在脓毒症早期诊断和预后评估的应用已被广泛研究,已经提出了近200种与脓毒症相关的生物指标^[10],包括细胞因子、受体生物标志物、凝血生物标志物、急性期蛋白生物标志物,以及与器官功能障碍、血管舒张、血管内皮损伤相关的生物标志物。

2.1 C反应蛋白(CRP) CRP是一种由肝脏产生的急性时相反应蛋白,其水平在感染、炎症和组织损伤等应激状态下显著升高。CRP的快速反应特性使其成为早期诊断脓毒症的重要工具之一。健康成年人血液只有微量CRP,机体感染导致其合成量明显增加,在12小时后升高,36~50小时后达到高峰,且CRP水平的动态变化可以反映病情的进展和治疗效果。一项纳入905例患者的Meta分析发现CRP区分感染性炎症和非感染性炎症的敏感性仅为75%,特异性更低(67%)^[11]。此外,CRP升高是非特异性的,无法明确区分不同类型的感染(如细菌、病毒或真菌感染)^[12]。

2.2 降钙素原(PCT) PCT是一种由116个氨基酸组成的蛋白质,主要在甲状腺滤泡旁细胞及肺和小肠的神经内分泌细胞中表达。健康人血液中的PCT浓度极低,但在感染时,特别是在革兰氏阴性细菌感染,PCT在甲状腺外的器官和组织中被诱导产生并释放到血液中,其浓度迅速升高。当PCT水平超过正常值的2个标准差以上时,通常与细菌感染和脓毒症有关,且其升高程度与脓毒症的严重程度呈正相关。有研究表明PCT测量优于CRP,不仅可以区分细菌和病毒感染^[11],而且可以区分脓毒症和非感染性全身性炎症。一项包含30多项研究的Meta分析发现,PCT水平区分脓毒症与非感染性全身炎症反应的总敏感性为77%,特异性为79%^[13]。因此,单独使用PCT进行脓毒症的早期诊断和预后评估存在一定局限性,可能会导致过度诊疗。

2.3 细胞因子 细胞因子是一类由免疫细胞分泌的具有广泛生物学活性的小分子蛋白质或多肽,具有调节免疫和炎症反应的功能。细胞因子的快速响应特性使其成为早期识别脓毒症的重要工具。在脓毒症发生的早期阶段,机体会迅速启动免疫反应,大量释放细胞因子,如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素(IL)-1和IL-6等,介导炎症反应并促进

其他免疫细胞的激活和募集。IL-6 在感染刺激后 2 小时内达到峰值,有研究发现 IL-6 识别成人脓毒症患者的敏感性为 85%,特异性为 62%^[14]。细胞因子的升高是非特异性的,还与癌症、过敏反应、慢性疾病等多种因素相关,联合检测细胞因子的水平变化对于脓毒症早期诊断仅具有一定临床价值。

2.4 血乳酸 乳酸是机体缺氧时体内无氧糖酵解的中间产物,严重脓毒症患者会伴有微循环血管舒缩障碍,全身或局部组织器官血流灌注不足,氧无法满足组织代谢需要,导致血乳酸升高。氧供不足引起肝功能受损导致乳酸代谢减少,促进血乳酸产物堆积。高乳酸血症(血乳酸水平大于 2 mmol/L)常常预示着严重的组织缺氧和代谢紊乱,其水平升高与脓毒症患者的死亡率显著相关^[10]。但血乳酸是非特异性的,心力衰竭、肝功能不全、严重出血和创伤等也可导致乳酸水平升高。因此,血乳酸水平尚不足以作为独立的脓毒症早期识别标志物。

2.5 D-二聚体 D-二聚体是交联纤维蛋白在纤溶酶作用下水解而形成,是反应机体凝血和纤溶系统激活的重要指标。脓毒症患者血液中的细菌毒素和炎症介质常引发凝血系统的过度激活,导致微血管内的纤维蛋白沉积,同时启动纤溶系统进行降解,产生大量的 D-二聚体。因此,D-二聚体的水平升高可以反映脓毒症患者体内凝血与纤溶系统的激活状态,是脓毒症早期诊断的重要指标之一。但 D-二聚体特异性较低,深静脉血栓、肺栓塞等也可导致其水平升高,尚无法通过该指标特异性识别早期脓毒症。

2.6 血清肝素结合蛋白(HBP) HBP 是嗜中性粒细胞释放的急性反应蛋白,能够增加血管通透性,并促进炎症细胞的迁移和组织损伤,在健康人群中其含量较低。当出现局部或轻微的细菌感染时,血浆 HBP 水平迅速升高,尤其是脓毒症患者血浆 HBP 水平相较于非脓毒症患者明显升高,其敏感性和特异性均高于 PCT 和 CRP。多项研究表明,在疑似感染的重症患者中,HBP 检测能够快速、准确地识别出脓毒症患者,指导及时的治疗决策。同时,HBP 浓度与器官功能障碍评分(如 SOFA 评分)呈正相关,能够及时反映脓毒症的病情进展。虽然 HBP 在脓毒症中的特异性较高,但仍会受到一些炎症性疾病影响而数值波动。

2.7 血清淀粉样蛋白 A(SAA) SAA 是一种由肝脏合成的急性时相反应蛋白,主要受细胞因子的调控,具有快速响应特性。SAA 在急性炎症反应过程或感染急性期快速升高,且短时间内可达正常水平的数倍,随着病情好转而迅速下降。相比于其他传

统生物标志物,SAA 具有更高的敏感性,在感染和炎症反应中的升高幅度和速度均超过 CRP,但其特异性相对较低,仅能作为脓毒症的一个辅助诊断指标。

2.8 中性粒细胞-淋巴细胞比值(NLR) 迄今为止,有关中性粒细胞的监测数据较为有限,单独利用中性粒细胞计数诊断脓毒症特异性不足,更多的是利用中性粒细胞的过表达和淋巴细胞的消耗反应机体炎症反应程度。中性粒细胞在抵御病原体感染的过程中发挥重要作用,其数量在感染和炎症反应中迅速增多,而淋巴细胞则因应激反应和免疫抑制而减少。这种双向变化使得 NLR 在感染早期迅速升高。NLR 作为一种新型且简便的炎症标志物,其计算仅需通过常规的全血细胞计数即可获得,具有简便、快速且经济实惠的优势。因此 NLR 可作为脓毒症早期诊断的辅助工具,动态监测 NLR 的变化为脓毒症患者预后评估提供有力依据。

3 新型生物标志物

3.1 中性粒细胞 CD64 (nCD64) 中性粒细胞是人体抵抗细菌感染的第一道防线,它们通过吞噬和杀灭病原体来响应感染。nCD64 是免疫球蛋白 Fc 部分的高亲和力受体,通常在中性粒细胞表面表达水平较低。在细菌感染或炎症反应中,CD64 的表达水平会显著上升,目前已被归类为提高早期脓毒症诊断准确性的生物标志物^[15]。使用流式细胞术测量 CD64 的表达评估中性粒细胞的激活状态,可以帮助区分脓毒症与其他非感染性炎症状态,但它需要专业的设备和技术人员进行专业的细胞标记和分析,在广泛应用上仍面临技术和经济的挑战。

3.2 sCD14-ST 与 CRP 或 PCT 这些“间接”标志物相比,释放到血液循环中的可溶性蛋白质形式是免疫细胞激活的直接结果,因此在脓毒症相关的免疫激活方面具有更高的特异性。sCD14-ST 是可溶性 CD14(sCD14)的蛋白水解产物,含有 64 个氨基酸。CD14 是 Toll 样受体 4(TLR4)的辅助受体,参与识别细菌脂多糖(LPS)。当发生细菌感染时,CD14 结合脂多糖(LPS)-脂多糖结合蛋白(LBP)复合物,通过 TLR4 传递信号,激活宿主免疫反应,触发一系列炎症介质的释放,如细胞因子和趋化因子,从而引发全身性炎症反应。在炎症反应中,CD14-LPS-LBP 复合物通过金属蛋白酶从细胞表面剥落,入血后被蛋白酶进一步切割形成 sCD14-ST。因此,sCD14-ST 的生成与细菌感染和炎症反应直接相关,可作为脓毒症的诊断性生物标志物。一项 Meta 分析显示,CD14-LPS-LBP 复合物针对脓毒症的总体敏感性为 83%,特异性为 78%。将 sCD14-

ST 作为诊断标准引入后,脓毒症的诊断概率从 56% (所有受试者的预测概率) 提高到 81% (阳性结果概率)^[16]。然而,研究表明 sCD14-ST 和 PCT 在预测早期脓毒症方面结果相似。同时,sCD14-ST 和 CRP 在诊断脓毒症的精确度上没有显著差异,尽管通常认为 PCT 的准确性优于 CRP^[17]。

3.3 髓样细胞中表达的触发受体 1 (TREM1) 触发受体在骨髓细胞上表达-1 (TREM-1) 是一种主要表达在免疫细胞表面的蛋白质,尤其是在中性粒细胞和单核细胞上。在感染和炎症的过程中,活化的中性粒细胞和单核细胞会释放可溶性 TREM-1 (sTREM-1)。有研究分析血浆中的 sTREM-1 区分由细菌感染引起的脓毒症和 SIRS 的能力,结果表明 sTREM-1 诊断脓毒症的诊断准确性中等 (AUC 0.87),综合敏感性 79%,综合特异性 80%^[18],基于这些结果,sTREM-1 并不优于迄今为止介绍的生物标志物。

虽然许多生物标志物已经被研究用于脓毒症的早期诊断,但每种生物标志物都有其自身的局限性,使用单一生物标志物的准确性仍有待验证。目前期待能找到一个单一、特异且敏感的脓毒症相关生物标志物,作为描述患者临床状况准确且可重复的测量指标,能够区分正常和病理状态、对疾病严重程度进行分级,成为脓毒症或疑似脓症患者早期识别诊断、风险分级、指导治疗、监测治疗反应和预测预后的有力工具。

4 新兴的多组学技术

多组学技术是一种集成不同生物学数据的分析方法,包括基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学和微生物组学等,通过综合分析不同层次的生物数据,识别队列之间的差异,提供更精准的脓毒症的诊断和治疗策略。

4.1 基因组学 基因组学通过全面测序和分析个体的 DNA 序列,侧重于基因组的结构、定位、编辑和功能,揭示与疾病相关的遗传变异和多态性^[19]。全基因组测序是基因组学的核心方法,对个体整个基因组进行测序;全外显子测序专注于基因组中编码蛋白质的外显子区域,虽然只占基因组的一小部分,但这些区域包含了大多数与疾病相关的变异。研究发现,与 SIRS 组相比,基因 ITGAM、CD44、C3AR1 和 IL2RG 在脓毒症组中高表达 ($P < 0.05$)^[20]。但目前关于脓毒症的全基因组关联分析的研究数量有限,且多数围绕在脓毒症病死率方面研究与感染性疾病预后有因果关系的遗传变异。

4.2 转录组学 转录组学促进了脓毒症新诊断方法的发展。转录组学集中在 RNA 层面, RNA 测序

(RNA-seq) 方法通过测定细胞或组织中所有 RNA 分子的序列和数量,分析基因在不同条件下的表达差异^[21]。传统的 RNA 测序鉴定多个细胞群中的差异表达基因,但它并不能确定导致细胞间差异的基因^[22]。单细胞 RNA 测序 (scRNA-seq) 技术在单细胞水平上分析转录组学谱,研究不同细胞间的基因表达差异,广泛用于识别细胞异质性^[23]。有关脓毒症转录组学的研究多数是基于信使 RNA 来探究其对应蛋白质及基因表达的改变。多个队列研究验证全白血细胞的部分基因集能够区分脓毒症和无菌性全身炎症^[24]。研究发现,新的逆转录扩增技术可以在几分钟内对基因表达特征进行分析,快速诊断急性感染和脓毒症,并预测疾病严重程度^[25]。目前有关脓毒症转录组学的研究大多围绕在脓毒症的分型,比如 SRS1 和 SRS2 型,其中 SRS1 型是具有免疫抑制表型的个体,具有包括内毒素耐受、T 细胞衰竭和人类白细胞抗原下调等特征,与 SRS2 相比,SRS1 与更高的 14 d 病死率相关等^[26]。理想状态下,通过检测基因变异和表达变化,识别与脓毒症易感性和病理机制相关的遗传标志物,揭示与脓毒症相关的遗传变异和基因表达模式是用于脓毒症早期诊断的有利工具。

4.3 代谢组学 代谢组学是对代谢组的研究,代谢组是生物体中负责代谢过程的细胞产生的小分子代谢产物的集合^[27],生物体的基因组、转录组和蛋白质组都反映在代谢组中。代谢组学研究一般有两种方法,靶向和非靶向实验,类似于上述病原体 NAAT 检测技术^[27];有三种分析技术:核磁共振、气相色谱-质谱 (GC-MS) 和液相色谱-质谱 (LC-MS)。核磁共振分析来自原子同位素原子核的信号,可以提供详细的分子结构信息。GC-MS 和 LC-MS 测定的是液相或气相色谱分离后带电代谢物的质荷比,可以提供更高的灵敏度和广泛的代谢物检测。因此,GC-MS 和 LC-MS 更常用于败血症代谢组学研究^[19]。目前已发表的代谢组学研究主要集中在脓毒症的诊断、预后和治疗反应方面,并且多集中在区分 Sepsis 和 SIRS,最常涉及氨基酸和胺类、脂肪酸相关代谢产物^[28]。一项多中心前瞻性研究分析纳入了 406 例患者 (45 例脓症患者,66 例非感染性 SIRS 患者,100 例肺炎患者,112 例尿路感染患者,83 例腹腔感染患者),在患者入院后 24 小时内采集血液样本进行靶向 LC-MS,检测与氨基酸、胺类、脂肪酸和磷脂相关代谢产物。结果发现,在脓毒症队列与非脓毒症相比有 26 种代谢物存在显著差异,包括 3 种酰基肉碱、3 种氨基酸、5 种生物胺、8 种甘油磷脂和 7 种鞘脂。选择代谢物鞘脂 SMC22;3

和甘油磷脂 lysoPCaC24:0 进行逻辑回归计算脓毒症存在的预测概率发现,与 CRP、降钙素原或 IL-6 相比,SMC22:3 和 lysoPCaC24:0 的组合具有更好的区别作用,诊断脓毒症的敏感性为 84.1%,特异性为 85.7%。鞘脂 SMC22:3 和甘油-磷脂 lysoPCaC24:0^[29]。可见代谢组学提供了一种独特的方法来研究脓毒症在疾病期间特定时间点对宿主代谢物谱的影响。这些代谢物的变化与炎症反应和器官功能障碍密切相关,或许可以作为脓毒症早期诊断和预后评估的标志物。

多组学的精确检测和分析技术的进步为脓毒症早期诊断的提供了重大突破的机会。结合代谢组学、转录组学和单细胞测序技术,研究代谢物和 mRNA 的水平,利用这两项组织学研究之间的差异和协同作用,对基因表达进行全面评估,这是传统方法学无法实现的。

5 新兴的微流控诊断技术

尽管基于组学的技术可以帮助识别与脓毒症诊断和预后相关的免疫特征,但由于其复杂性和缺乏标准化,它们在临床实践中的应用仍然困难。微流控芯片是集成生物、化学及医学等领域涉及的样品制备、分离、检测等多种技术的一种微技术。芯片设计灵活多样,多通道芯片组合可设计复杂的微通道网络结构(如直线型、弯曲蛇形、折叠形、多边形),用于模拟复杂的微血管环境^[30]。成像流式细胞术将传统流式细胞术的高通量、多参数功能与形态学和空间信息相结合,以单细胞分辨率捕获数十万个单个细胞的数字图像^[31]。因此,微流控芯片技术与成像流式细胞术的联用可以研究健康与疾病中血细胞在微血管内的流动和变形性能。

红细胞占血液体积的 40%~45%,主导了血流动力学,在惯性升力和细胞-血管壁相互作用下易发生变形并迁移至血管中间区域,导致白细胞和血小板向血管壁附近迁移。通过微流控芯片装置可以对少量血样快速、高效地检测并分离出不同类型的血细胞。目前我们掌握的微流控分离技术驱动单个细胞均匀通过设计的几何形状的微通道,以细胞直径大小不同原理在通道宽度的不同位置对齐,然后在不同的出口连续收集样品实现白细胞和红细胞的分离,且不需要添加任何溶解剂或事先的细胞标记处理。

中性粒细胞在脓毒症的发病机制中扮演着关键而复杂的角色,既参与了机体的防御反应,也可能导致过度的炎症和组织损伤,加剧疾病进程^[32]。一方面,中性粒细胞通过趋化、黏附、迁移等过程到达感染部位,发挥吞噬和杀伤病原体的功能,有助

于控制感染。但另一方面,过度激活的中性粒细胞也会释放大量的活性氧自由基、蛋白水解酶、髓过氧化物酶等,导致组织损伤^[33]。脓毒症中,中性粒细胞在炎症因子激活下发生形态和功能变化,包括细胞骨架的重组,影响其变形能力和流动性,造成中性粒细胞在微血管的滞留,进而触发免疫系统的瀑布式炎症反应,导致内皮细胞损伤和血管通透性增加,加重局部组织损伤。这表明了中性粒细胞硬化在脓毒症的病理生理过程中起到关键作用^[34]。而利用成像流式细胞术获得细胞的灰度图像信息,对细胞形态学、结构及亚细胞信号分布、力学变化等多个特征的高通量记录,并通过软件对采集的数据集进行分析或许可用于脓毒症的快速早期诊断。

近些年来迅速发展的微流控芯片技术凭借其特有的优势为健康与疾病中的细胞力学性能研究提供了良好平台,但如何模拟更复杂的几何形态和更逼真的血流微环境,把血细胞形状的动态变化和种疾病的病理变化及临床表现联系起来,将是未来工作的一个重点和难点。

6 总结与展望

脓毒症是一种复杂的综合征,无论是潜在的病原体还是患者的临床表现都具有高度的异质性。早期发现脓毒症并采取及时、适当的干预措施是改善脓症患者预后的关键。不同领域的最新技术发展使开发新的疑似脓症患者快速、准确的诊断工具成为可能,从而促使临床医生从经验性治疗转向快速和客观的诊断决策,但这些生物标志物和技术稳健性仍需要大量研究进行验证。除了生物标志物研究和先进技术的发展,智能生物信息学工具(如机器学习算法)与临床检查与实验室参数的结合,有可能开辟全新的脓毒症早期诊断模型。我们将目光聚焦于寻找灵敏度高,特异性强的生物技术用于诊断脓毒症早期诊断、病情严重程度预测及预后评估,这是有效控制脓毒症进展、从而提高患者生存质量的关键。

【参考文献】

- [1] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study [J]. *Lancet*, 2020, 395(10219): 200-211.
- [2] Im Y, Kang D, Ko RE, et al. Time-to-antibiotics and clinical outcomes in patients with sepsis and septic shock: a prospective nationwide multicenter cohort study [J]. *Crit Care*, 2022, 26(1): 19.
- [3] Churpek MM, Zdravec FJ, Winslow C, et al. Incidence and prognostic value of the systemic inflammatory response syndrome and organ dysfunctions in ward patients [J]. *Am J Respir Crit Care*

- Med, 2015, 192(8): 958-964.
- [4] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference [J]. Crit Care Med, 2003, 31(4): 1250-1256.
- [5] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. Jama, 2016, 315(8): 801-810.
- [6] Ferreira F L, Bota D P, Bross A, et al. Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients [J]. Jama, 2001, 286(14): 1754-1758.
- [7] Freund Y, Lemachatti N, Krastinova E, et al. Prognostic accuracy of sepsis-3 criteria for in-hospital mortality among patients with suspected infection presenting to the emergency department [J]. Jama, 2017, 317(3): 301-308.
- [8] Hwang SY, Jo I J, Lee S U, et al. Low accuracy of positive qSOFA Criteria for Predicting 28-day mortality in critically ill septic patients during the early period after emergency department presentation [J]. Ann Emerg Med, 2018, 71(1): 1-9.
- [9] Cheng MP, Stenstrom R, Paquette K, et al. Blood culture results before and after antimicrobial administration in patients with severe manifestations of sepsis: a diagnostic study [J]. Ann Intern Med, 2019, 171(8): 547-554.
- [10] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [J]. Intensive Care Med, 2017, 43(3): 304-377.
- [11] Simon L, Gauvin F, Amre DK, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis [J]. Clin Infect Dis, 2004, 39(2): 206-217.
- [12] Póvoa P, Teixeira-Pinto AM, Carneiro AH. C-reactive protein, an early marker of community-acquired sepsis resolution: a multi-center prospective observational study [J]. Crit Care, 2011, 15(4): R169.
- [13] Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(5): 426-435.
- [14] Hou T, Huang D, Zeng R, et al. Accuracy of serum interleukin (IL)-6 in sepsis diagnosis: a systematic review and meta-analysis [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(9): 15238-15245.
- [15] Rogina P, Stubljar D, Lejko-Zupanc T, et al. Expression of CD64 on neutrophils (CD64 index): diagnostic accuracy of CD64 index to predict sepsis in critically ill patients [J]. Clin Chem Lab Med, 2015, 53(4): e89-91.
- [16] Zhang J, Hu ZD, Song J, et al. Diagnostic value of presepsin for sepsis: a systematic review and meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2015, 94(47): e2158.
- [17] Wu CC, Lan HM, Han ST, et al. Comparison of diagnostic accuracy in sepsis between presepsin, procalcitonin, and C-reactive protein: a systematic review and meta-analysis [J]. Ann Intensive Care, 2017, 7(1): 91.
- [18] Wu Y, Wang F, Fan X, et al. Accuracy of plasma sTREM-1 for sepsis diagnosis in systemic inflammatory patients: a systematic review and meta-analysis [J]. Crit Care, 2012, 16(6): R229.
- [19] Schuurman AR, Reijnders TDY, Kullberg RFJ, et al. Sepsis: deriving biological meaning and clinical applications from high-dimensional data [J]. Intensive Care Med Exp, 2021, 9(1): 27.
- [20] Chen W, Guo W, Li Y, et al. Integrative analysis of metabolomics and transcriptomics to uncover biomarkers in sepsis [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 9676.
- [21] Hrdlickova R, Toloue M, Tian B. RNA-Seq methods for transcriptome analysis [J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2017, 8(1).
- [22] Yip SH, Sham PC, Wang J. Evaluation of tools for highly variable gene discovery from single-cell RNA-seq data [J]. Brief Bioinform, 2019, 20(4): 1583-1589.
- [23] Shang J, Li L, Lai C, et al. Single-cell profiling reveals the heterogeneity of NK cells during anti-PD-1 therapy in non-small-cell lung cancer [J]. Int Immunopharmacol, 2023, 124(Pt A): 110743.
- [24] Stanski NL, Wong HR. Prognostic and predictive enrichment in sepsis [J]. Nat Rev Nephrol, 2020, 16(1): 20-31.
- [25] Rimmel MC, Coyle SM, Eshoo MW, et al. Diagnostic host gene expression analysis by quantitative reverse transcription loop-mediated isothermal amplification to discriminate between bacterial and viral infections [J]. Clin Chem, 2022, 68(4): 550-560.
- [26] Davenport EE, Burnham KL, Radhakrishnan J, et al. Genomic landscape of the individual host response and outcomes in sepsis: a prospective cohort study [J]. Lancet Respir Med, 2016, 4(4): 259-271.
- [27] Lee J, Banerjee D. Metabolomics and the microbiome as biomarkers in sepsis [J]. Crit Care Clin, 2020, 36(1): 105-113.
- [28] Clayton TA, Lindon JC, Cloarec O, et al. Pharmaco-metabonomic phenotyping and personalized drug treatment [J]. Nature, 2006, 440(7087): 1073-1077.
- [29] Neugebauer S, Giamarellos-Bourboulis EJ, Pelekanou A, et al. Metabolite profiles in sepsis: developing prognostic tools based on the type of infection [J]. Crit Care Med, 2016, 44(9): 1649-1662.
- [30] Sackmann EK, Fulton AL, Beebe DJ. The present and future role of microfluidics in biomedical research [J]. Nature, 2014, 507(7491): 181-189.
- [31] Doan M, Vorobjev I, Rees P, et al. Diagnostic potential of imaging flow cytometry [J]. Trends Biotechnol, 2018, 36(7): 649-652.
- [32] Aulakh GK. Neutrophils in the lung: "the first responders" [J]. Cell Tissue Res, 2018, 371(3): 577-588.
- [33] Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, et al. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps [J]. J Cell Biol, 2010, 191(3): 677-691.
- [34] Bashant KR, Vassallo A, Herold C, et al. Real-time deformability cytometry reveals sequential contraction and expansion during neutrophil priming [J]. J Leukoc Biol, 2019, 105(6): 1143-1153.

(收稿日期:2024-06-05;修回日期:2024-06-10)

(本文编辑:侯晓林)